

Aus der Augenklinik des Klinikums Charlottenburg
der Freien Universität Berlin

Geschäftsf. Direktor: Prof. Dr. J. Wollensak

**Der Einfluß von Alpha-Chymotrypsin
bei der intrakapsulären Katarakt-Operation
mit enzymatischer Zonulolyse auf die Endothelzellzahl
der menschlichen Hornhaut**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Will-Friedbert Lohoff
aus Paderborn

1983

1983

Aus der Augenklinik des Klinikums Charlottenburg

der Freien Universität Berlin

Geschäftsf. Direktor: Prof. Dr. J. Wollensak

Der Einfluß von Alpha - Chymotrypsin bei der
intrakapsulären Katarakt - Operation mit en-
zymatischer Zonulolyse auf die Endothelzellzahl
der menschlichen Hornhaut

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den medizinischen Fachbereichen

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Will - Friedbert Lohoff

aus Paderborn

1983

Referent:

Prof. Dr. H. Bleckmann

Korreferent:

Prof. Dr. F. Hoffmann

**Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin**

Promoviert am:

22. Februar 1984

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Chymotrypsin in der Augenheilkunde

1.2. Biochemie von Alpha- Chymotrypsin

1.3. Wirkung von Alpha - Chymotrypsin bei der intracapsulären Katarakt - Chirurgie

1.4. Nebenwirkungen der Alpha - Chymotrypsinanwendung

1.5. Wirkung von Alpha - Chymotrypsin auf die Zonulafasern

1.6. Indikation einer enzymatischen Zonulolyse

2. Ziel der Untersuchung

3. Material und Methoden

3.1. Untersuchungszeit

3.2. Auswahl der Patienten

3.3. Einteilung der Gruppen

3.4. Operationstechnik

3.5. Spekularmikroskopie

3.6. Auszählung der Endothelzellen

4. Ergebnisse

4.1. Nachweis der Ablösung von kultivierten Kornea- endothelzellen durch Alpha - Chymotrypsin

4.2. Gruppeneinteilung, Alters - und Geschlechtsverteilung, sowie Einteilung der Kataraktformen der untersuchten Patienten

4.4 Postoperative Endothelzellzahl

- 4.5. Statistische Auswertung
5. Diskussion
6. Zusammenfassung
7. Tabellen mit Angaben der Patienten, Augen, Alter, Anzahl der ausgezählten Kästchen, Anzahl der Zellen pro Kästchen sowie Zellzahldifferenz vor und nach der Operation
8. Literatur

1. Einleitung

1.1 Chymotrypsin in der Augenheilkunde

BARRAQUER führte 1959 Alpha-Chymotrypsin in die Kataraktchirurgie ein; er hatte durch Zufall gefunden, daß beim Einspritzen von Alpha-Chymotrypsin in die Vorderkammer eine Verminderung der Festigkeit der Zonulafasern erreicht wird und damit die Extraktion der Linse erleichtert werden kann. BARRAQUER berichtet weiter, daß nachdem Alpha-Chymotrypsin zur Therapie einer Glaskörperblutung in die Vorderkammer gegeben worden war, nach 3 Tagen bei diesem Patienten eine totale Linsenluxation auftrat, die nur durch dieses Enzym hervorgerufen sein konnte. Daraufhin untersuchte er systematisch die Wirkung von Alpha-Chymotrypsin an Tieraugen sowie an enukleierten und amaurotischen menschlichen Augen, bevor diese Protease

systematisch bei Kataraktoperationen eingesetzt wurde (Literatur: BARRAQUER 1, 2, sowie 3 - 9)

Die Befunde von BARRAQUER wurden von vielen Ophthalmologen sofort aufgegriffen: WEBER (64) in der Schweiz und HOFFMANN (35) in Österreich waren die ersten, die die enzymatische Zonulolyse aufgriffen. In Deutschland fand REMKY (5) in der Münchener Augenklinik, daß nach Behandlung mit Alpha-Chymotrypsin mit Andauung der Zonula eine schonendere Extraktion der Linse erzielt werden kann. Weitere Berichte liegen vor von WALSER (4) und LIEGL (7).

1.2 Biochemie von Alpha-Chymotrypsin

Das Enzym Alpha-Chymotrypsin ist eine Endopeptidase des Pankreas und läßt sich hinsichtlich ihrer biochemischen Wirkung als Peptidylhydrolase be-

schreiben (E.C. 3.4.4.5.). Im Pankreas wird die inaktive Vorstufe Chymotrypsinogen gebildet, die Aktivierung zum Chymotrypsin erfolgt im Dünndarm; dazu ist Trypsin notwendig. Auch Trypsin entsteht im Darm aus Trypsinogen, das wiederum das inaktive Produkt der Pankreaszellen ist. Katalysator für die Aktivierung ist die Enteropeptidase des Dünndarms. Auch eine Autokatalyse durch Trypsin ist möglich. Alpha-Chymotrypsin weist eine Spezifität gegenüber Peptid- und Esterbindungen auf, an denen aromatische Aminosäuren wie Phenylalanin, Thyrosin und Tryptophan beteiligt sind. Daneben werden auch entsprechende Derivate von Leucin, Methionin und Glutamin gespalten. Eine Aktivitätsbestimmung läßt sich folgendermaßen vornehmen:

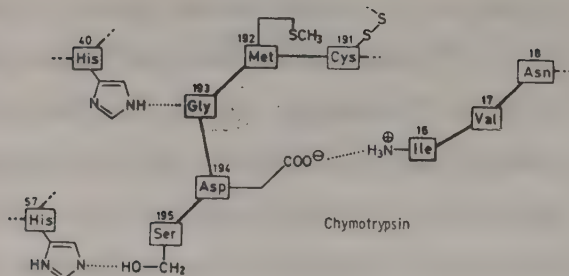
Alpha-Chymotryps.



(BERGMEIER, 1970).

Alpha-Chymotrypsin ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 25 000 und besteht aus ca. 245

Aminosäureresten. Trypsin hat ein Molekulargewicht von 24 000 (128).



Chymotrypsin ist eine Sammelbezeichnung für die Gruppe von proteolytischen Enzymen, die unter Einwirkung von Trypsin aus ihrer inaktiven Vorstufe entstehen. Sie spalten im Duodenum vor allem Peptidbindungen bei der Eiweißdigestion. Das wichtigste und am meisten untersuchte Chymotrypsin stellt Alpha-Chymotrypsin dar. Es hydrolysiert spezifisch an der Carboxylgruppe aromatischer L-Aminosäuren von Proteinen, Peptiden, Aminosäureestern und Amiden (129). Aus dem Pankreas konnten zwei zymogene Chymo-

trypsinogen A und Chymotrypsinogen B isoliert werden. Alpha-Chymotrypsin entsteht aus Chymotrypsinogen A. Alpha-Chymotrypsin hat die gleiche Substratspezifität wie Chymotrypsin B, aber hydrolysiert die Substrate mit unterschiedlicher Geschwindigkeit.

1.3. Wirkung von Alpha-Chymotrypsin bei der intracapsulären Katarakt-Chirurgie

Der therapeutische Einsatz von Trypsin bei verschiedenen Erkrankungen hat sich im allgemeinen nicht durchgesetzt. So ist die thrombolytische Behandlung mit Trypsin, die vor über 20 Jahren in den USA angeregt wurde, (131) heute verlassen. Gehalten hat sich lediglich die Anwendung von Alpha-Chymotrypsin für die enzymatische Zonulolyse (132).

Alpha-Chymotrypsin, in die hintere Augenkammer gegeben, bewirkt eine Andauung der Zonulafasern. Dabei kommt es zur Digestion der Kittsubstanz und Verlust der

Fibrillenfeinstruktur (69, 133). Dabei ließ sich nachweisen, daß Alpha-Chymotrypsin eine Zonulolyse ohne Schädigung der Linsenkapsel bzw. der vorderen Glaskörpergrenzmembran erreicht (20). Es kommt zu einer nachweisbaren Verminderung der Reißfestigkeit der Zonulafasern (69). Dieses wiederum führte zu einer deutlichen Besserung der operativen Ergebnisse der Kataraktchirurgie, welche sich auch bei Doppel-Blind-Untersuchungen (27, 63) nachweisen ließ oder als Steigerung der prozentualen Erfolgsrate (28, 54).

Die Einführung von Alpha-Chymotrypsin in die Kataraktchirurgie als enzymatische Zonulolyse fand zu einer Zeit statt, in der die Kataraktextraktion in der Regel mit Pinzette bzw. Sauglöffel vorgenommen wurde. Die leichtere Löslichkeit der zu entfernenden Katarakt wurde deshalb als ein besonderer Fortschritt empfunden. Deshalb wurde die Anwendung von Alpha-Chymotrypsin für alle intracapsulären Kataraktextraktionen empfohlen (11), wenn auch mit individueller Handhabung (12). Nach Einführung der Kryoextraktion schien deshalb die

enzymatische Zonulolyse mit Alpha-Chymotrypsin zunächst nicht mehr erforderlich, weil man glaubte, durch Anfrieren der Linse genug Kraft zu haben, die Zonulafasern durchreißen zu können (60). Die Diskussion um die Anwendung der enzymatischen Zonulolyse tritt in dem Ausmaß in den Hintergrund operativer Überlegungen, wie neue Operationsverfahren heute an Bedeutung gewinnen. Zum Beispiel Entfernung der Linse mit Fragmatom, extracapsuläre Kataraktextraktion und Phakoemulsifikation. Das ist auch der Grund dafür gewesen, warum diese Untersuchung bei Patienten mit intracapsulärer Kataraktextraktion mit und ohne Zonulolyse einen längeren Zeitraum beanspruchten.

1.4. Nebenwirkungen der Alpha-Chymotrypsinanwendung

Nach Einführung der enzymatischen Zonulolyse durch BARRAQUER bzw. Fortführung dieses Vorschlages durch

andere Operateure (3,4,5,7,35,64) traten in zunehmendem Maße auch Fragen nach der Nebenwirkung der enzymatischen Zonulolyse auf:

ROHRSCHEIDER nennt als Nebenwirkung eine auffällige Verletzlichkeit der Linsenkapsel (8), Auflockerung der Glaskörpergrenzmembran und eine Verzögerung der Wundheilung. Eine ähnliche Beobachtung machte auch FANTA (16) der neben dieser verzögerten Wundheilung auch Fisteln im Starschnittbereich fand. PAWHA (32) berichtete darüberhinaus über eine verzögerte Herstellung der Vorderkammer und über Streifenkeratitis. FUCHS (9) beobachtete vermehrt Pigmentausschwemmung während der Operation und Anwendung von Alpha-Chymotrypsin, verzögerte Wundheilung, die zusätzliche Nähte erforderte, stärkere postoperative Pigmentierung der vorderen Glaskörpergrenzschicht, vermehrt und länger anhaltende Descemetfältelung sowie stärkere postoperative Schmerzen und Reizzustände am Auge (65). In einzelnen Beobachtungen wurde die Hornhautschädigung als Keratitis_{striata} auch in Einzelbeiträgen beschrieben (10, 32, 55).

RADNOT und PAJOR (14) sowie N. TANAKA (15) konnten an der Kaninchenhornhaut nach lokaler Anwendung von Alpha-Chymotrypsin Hornhautödem und Andauung von verletzten Hornhautarealen nachweisen. HÖFFMANN (34) fand keine Beeinflussung des Hornhautendothels im Tierexperiment, jedoch ließ sich häufiger ein Ödem in der Umgebung der Injektionsstelle nachweisen. Auch in der menschlichen Hornhaut wurden Trübungen beschrieben (24, 39), so daß man die Hornhautdystrophie als eine wesentliche Kontraindikation zur Anwendung von Alpha-Chymotrypsin bei der intracapsulären Kataraktextraktion ansah (28), was von MOORE (27) widerlegt wurde. Es fanden sich Zellinfiltrate im Parenchym der Hornhaut, jedoch kein permanenter Hornhautschaden. Bei 154 Patienten mit einer enzymatischen Zonulolyse zeigte sich ein Hyphäma in 2,7%, eine verzögerte Herstellung der Vorderkammer in 5,3%, ein Irisprolaps in 1,4%, Glaukom in 4% und eine Amotio in 0,6%. 1964 wurde von KIRSCH ein Glaukom als Folge der Enzymanwendung und mögliche Ursache des Hornhautödems angegeben (53). Dabei handelt es sich um ein sogenanntes Enzymglaukom durch Trabekel-

blockade (53, 55, 59, 62) aufgrund angedauter Zonulafasern, welches sich auch elektronenmikroskopisch nachweisen ließ (61, 70). Angeführt wurde nach Anwendung der Zonulolyse auch eine Schädigung der Blutkammerwasserschranke als Ursache für ein Enzymglaukom (66).

1.5. Wirkung von Alpha-Chymotrypsin auf die Zonulafasern

Der Aufhängeapparat der Linse besteht aus einem radiären Faserkranz, der von dem Linsenäquator ansetzt und eine mechanische Stabilisierung der Linse bewirkt. Diese Fasern sind sehr dehnbar. Sie bestehen aus einer Kittsubstanz mit darinliegenden Fibrillen (134, 35). Man unterscheidet zwei Gruppen sich Überkreuzender Fasern, die als orbikulo-kapsuläres System und als zilio-kapsuläres System bezeichnet werden. Chemisch gesehen sind diese Fasern weder dem Kollagen zuzurechnen noch lassen sie sich als elastische

Fasern ansprechen, wie aus quantitativen und qualitativen Aminosäureanalysen hervorgeht (95). Eher scheint eine chemische Ähnlichkeit zu Fibrinogen, Myosin bzw. den Gliafilamenten zu bestehen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben jedoch, daß eine dem Myosin bzw. Fibrinogen typischen Querstreifungsperiodizität nicht nachzuweisen war. Histochemische Analysen ergaben Hinweise auf das Vorliegen von Glykoproteiden und Glykosaminoglykanen in einem Verhältnis von 2:1. Die Glykosaminoglykan-komponenten ließen sich als Chondroitinsulfat A und Hyaluronsäure wahrscheinlich machen. Die bisher nicht eindeutig geklärte Natur der Zonulafasern erklärt auch, daß der Angriffspunkt von Alpha-Chymotrypsin bisher nicht exakt beschrieben worden ist. Die Alpha-Chymotrypsin-Wirkung ist nur histologisch nachgewiesen.

1.6. Indikation einer enzymatischen Zonulolyse

An der Augenklinik des Klinikums Charlottenburg der Freien Universität Berlin gelten folgende Diagnosen als Indikation einer enzymatischen Zonulolyse:

1. Hohe Myopie
2. Alter unter 60 Jahren
3. Intumescente Katarakt.

Die Anwendung der enzymatischen Zonulolyse bei der hohen Myopie soll die zugfreie Entbindung der Linse unter Schonung der Glaskörpergrenzschicht ermöglichen, um einem eventuellen Glaskörperverlust vorzubeugen, insbesondere wenn der Glaskörper mit großer Wahrscheinlichkeit verflüssigt ist.

Die chemische Andauung der Zonulafasern bei präsenilen Katarakten ist unserer Ansicht nach gerechtfertigt, um die noch fest in ihrem Aufhängerapparat sitzenden Linsen leichter entbinden zu können.

Intumescente Linsen neigen bei der Entbindung zu einem vorzeitigen Platzen der Kapsel und können deshalb nur mit äußerster Vorsicht extrahiert werden. Dafür ist die chemische Degradation von Zonulafasern besonders geeignet.

2. Ziel der Untersuchung

Man kann davon ausgehen, daß Alpha-Chymotrypsin in die Hinterkammer gegeben, zur enzymatischen Zonulolyse auch in die Vorderkammer gelangt. Damit stellt sich die Frage, ob die in der Vorderkammer vorhandene Konzentration des Alpha-Chymotrypsins in der Lage ist, Endothelzellen der Hornhautrückfläche abzulösen. Bei Einführung der enzymatischen Zonulolyse mit Alpha-Chymotrypsin standen biomikroskopische Methoden zur quantitativen Analyse des Hornhautendothels nicht zur Verfügung.

Mit dieser Studie soll deshalb mit Hilfe der Spekularmikroskopie eine quantitative Analyse prä- und postoperativer Endothelphotographien vorgenommen werden. Als Vergleich zum Kollektiv von Kataraktoperationen mit enzymatischer Zonulolyse diene eine entsprechende Patientengruppe ohne Anwendung von Alpha-Chymotrypsin.

3. Material und Methoden

In einem getrennten Modellversuch wurden unabhängig von dieser Arbeit Rinderaugen spätestens eine Stunde nach Entnahme in Eiswasser von 4° C aufbewahrt. Nach einer weiteren Stunde wurden die Hornhäute entnommen und das Endothel mit Alpha - Chymotrypsin 1 : 5000 in BSS enzymatisch gelöst. Die Zellen wurden in Hanks' Balanced Salt Solution mit Penicillin und Streptomycin (500 U und 500 µg) fünf Minuten lang zentrifugiert (800 x g). Der Rückstand wurde in Eagle's Minimum Essential Medium (M E M) überführt. Das M E M war mit nichtessentiellen Aminosäuren angereichert (Cantz et al., 1972) und enthielt zusätzlich 20% fötales Kälberserum, Penicillin und Streptomycin wie oben angegeben und 10 mM HEPES (138) . Die Kultur erfolgte in 25 cm² Falcon Plastik Flaschen unter 5% CO₂ in Luft. Die Zellclone wurden nach sieben bis zehn Tagen beobachtet. Nach Konfluenz der Zellen wurde das Kulturmedium entfernt und der Zellrasen mit Alpha-Chymotrypsin 1 : 5000 überschichtet. Die Beobachtung der Ablösung der Endothelzellen erfolgte mit dem Zeiss Invertoskop und wurde mit der Contax RTS fotografiert.

3.1 Untersuchungszeit

Mit der Untersuchung der Patienten wurde am 1. Oktober 1981 begonnen. Bis zum 31. Dezember 1981 wurden insgesamt 110 Augen hinsichtlich der Endothelzellzahl untersucht.

3.2 Auswahl der Patienten

Insgesamt wurden von 110 Patientenaugen Endothelphotographien vor der Kataraktoperation ausgeführt. Von diesen 110 Augen konnten 32 Augen nicht bis zum Ende der Studie ausgewertet werden, aus folgenden Gründen: 15 Augen entfielen, da es zu einer Änderung des OP-Programms kam und damit die standardisierten Versuchsbedingungen weiterhin nicht gegeben waren. Von 7 Augen war die Bildqualität der erhaltenen Endothelphotographien so schlecht, daß eine einwandfreie Bestimmung der Zellzahl nicht gewährleistet war. 9 Patienten haben die Nachuntersuchung 6 Monate nach der

Operation nicht wahrgenommen und 1 Patient war zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung bereits verstorben. Damit blieben für die endgültige Auswertung 78 Augen.

3.3 Einteilung der Gruppen

Es verblieben 46 Augen , die ohne enzymatische Zonulolyse katarakt-extrahiert wurden. Davon entfielen 21 Augen in die Gruppe, bei denen präoperativ und zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung jeweils 2 getrennte Endothelphotographien mit jeweils 5 Kästchen oder mehr zur Auszählung zur Verfügung standen (Gruppe I). Bei den anderen 25 Augen (Gruppe II) konnte für die endgültige Auswertung vor der Operation bzw. bei der Nachuntersuchung nur jeweils eine Endothelphotographie mit mindestens 5 auswertbaren Kästchen für die statistische Berechnung berücksichtigt werden.

Für das Patientenkollektiv, bei der die Katarakt-extraktion mit enzymatischer Zonulolyse durchgeführt wurde, standen insgesamt 32 Augen zur statistischen Analyse zur Verfügung. Mindestens 2

Endothelphotographien mit jeweils 5 oder mehr auszählbaren Kästchen konnten bei 13 Augen gewonnen werden (Gruppe I). Bei 19 Augen ließen sich zur Endothelanalyse nicht mehr als eine Abbildung mit mindestens 5 auswertbaren Kästchen gewinnen. Alle Operationen wurden von 2 Operateuren ausgeführt, ohne daß sich eine Häufung eines Operateurs in jeweils einer Gruppe zeigte. Keine der in diese Studie aufgenommenen Gruppe wies eine bulbuseröffnende Voroperation auf.

3.4. Operationstechnik

Die Kataraktoperation begann nach Anschlingen des Musculus rectus superior in der Regel mit einem kornealen Graefe-Messerschnitt, der absichtlich nicht vollendet wurde. In 5 Fällen wurde durch ein kornealer Zweistufen-Schnitt mit Rasierklinge und Katzinschere gewählt. Nach Vorlegen von 2 Nähten erfolgte die endgültige Eröffnung, basale Iridektomie und Extraktion der Linse mit dem Kryoextraktor nach Amoils. Bei der enzymatischen Zonulolyse wurde Alpha-Chymotrase der Firma W. HASENKLEVER (Bonn) verwendet. Damit wurden 1 mg in 15 ml physio-

logischer NACL-Lösung gelöst (1:5 000).

Zwischen 0,6 und 1,9 ml dieser Lösung wurde mittels Knopfkanüle in die Hinterkammer gegeben durch die Pupille. Die Verweildauer des Alpha-Chymotrypsin in der Hinterkammer vor der Extraktion betrug exakt 2,5 Minuten. Der Verschluß des Starschnittes erfolgte durch Adaptation der vorgelegten Nähte und 3 weitere Nähte bei 10, 12 und 2 h.

Die Entfernung der ersten beiden Fäden erfolgte nach 10 Tagen, der letzten Fäden nach 6 Wochen. Bei keinem der Patientenaugen, die mit Alpha-Chymotrypsin behandelt worden waren, fand sich in der postoperativen Phase eine mehr als 24 stündige Drucksteigerung.

3.5 Spekularmikroskopie

Alle Endothelphotographien wurden mit dem Mikroskopzusatz der Firma ZEISS für die ZEISS-Spaltlampe angefertigt (126). Als Filme dienten Diafilme der Firma KODAK mit der Bezeichnung Ektachrom 200-24 DIN. Das hier benutzte Zusatz-

gerät zur Spaltlampe der Firma ZEISS, das die Länge des Gesichtsfeldes maximal mit 1,5 mm angibt, basiert auf dem Vogt'schem Prinzip. Es wird in Darstellung I wiedergegeben.

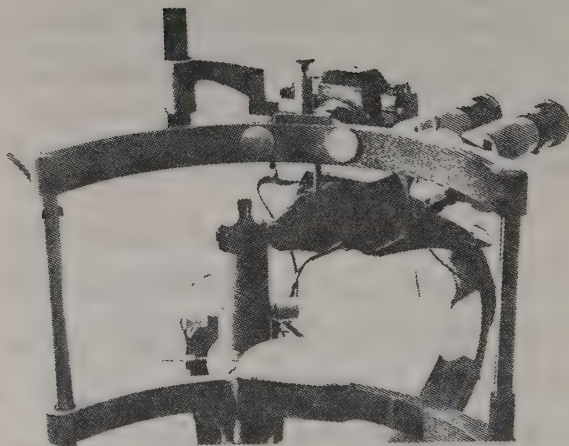


Abbildung I : Spaltlampe mit Endothelmikroskop

Damit wurde bei optimaler Einstellung ein sichtbarer Endothelstrang von ca. $0,14 \times 0,08 \text{ mm} =$

0,0112 mm² erfaßt, das entspricht in etwa 0,1% der Hornhau-trückfläche. Für statistische Analysen der kornealen Endothelzellen sind mindestens 5 Quadrate auf ihre Endothelzelldichte auszuzählen, um Werte zu erhalten, die auf die mittlere Zellzahl pro mm² rückschließen lassen. Bei der hier verwendeten Non-Kontakt-Methode muß auf die erhaltenen Endothephographien nachträglich ein Raster zum Auszählen aufgelegt werden. Bei den hier vorgelegten Untersuchungen wurde die Reproduktion einer Hämozytometerplatte verwendet, mit einer Kästchengröße von 0,1 x 0,1 mm, das entspricht einer Fläche von 0,01 mm², so daß in einem Rasterkästchen ausgezählte Zellzahlen x 100 die Zellzahl pro mm² ergibt. Je mehr Kästchen eines Rasters ausgezählt werden, desto genauer ist der Mittelwert der Rückschlüsse auf die Zellzahl pro mm². Bei der Auszählung eines einzelnen Kästchens ergibt sich der Faktor 100, zur Bestimmung der entsprechenden Zellzahldichte wurden mehr Kästchen ausgezählt, es wurden repräsentative Mittelwerte gebildet.

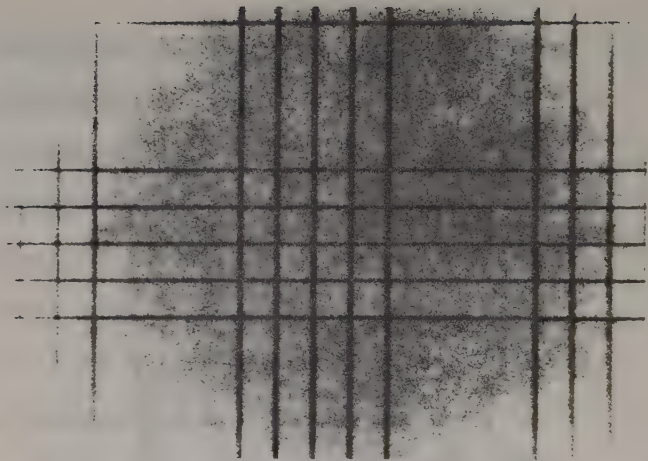


Abbildung II : Raster der Blutzählplatte

Die Blutkammer trägt die Angabe $0,04 = 1/25$
 mm^2 , also $\times 25 = 1 \text{ mm}^2$.

Wir wählten eine Unterteilung in 4, so daß
1 Kästchen unseres Rasters $1/4$ eines Blutkammer-
kästchens ist, also $0,1 \times 0,1 = 0,01 \text{ mm}^2$. Ein
Rasterkästchen ist $0,01 \text{ mm}^2$ groß und ergibt $\times$
 $100 = 1 \text{ mm}^2$.

3.6 Auszählung der Endothelzellen

Bei der "Non Kontakt Methode" (siehe Abbildung 2) muß auf die Endothelphotos nachträglich ein Raster zum Auszählen aufgelegt werden. Ausgehend von einer Blutauszählplatte wurde ein Raster entwickelt mit einer Kästchengröße von $0,1 \times 0,1 \text{ mm} = 0,01 \text{ mm}^2$, so daß die in einem Rasterkästchen ausgezählte Zellzahl $\times 100$ die Zellzahl pro mm^2 ergibt. Je mehr Kästchen des Rasters ausgezählt werden, desto genauer ist der Mittelwert, der $\times 100$ die Zellzahl pro 1 mm^2 ergibt.

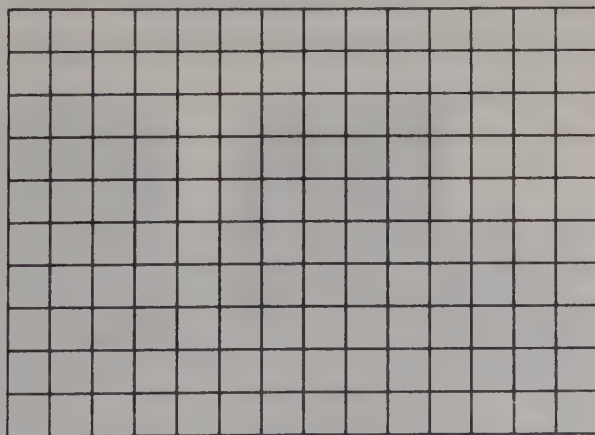


Abbildung III : Raster zum Auszählen der Zellen

Nach WARING (102) benutzen wir zum Auszählen die Rechteckmethode, das heißt wie bei einer Blutzählkammer werden die angeschnittenen Zellen nur an zwei Kanten mitgezählt, an den beiden anderen Kanten verworfen.

Um möglichst gesicherte Daten zu erhalten, wurden vor und ein halbes Jahr nach der Operation so viele Photos angefertigt, daß mindestens 2 Dias vor und nach der Operation mit mindestens 5 oder mehr Kästchen pro Dia zur Auswertung kommen sollte.

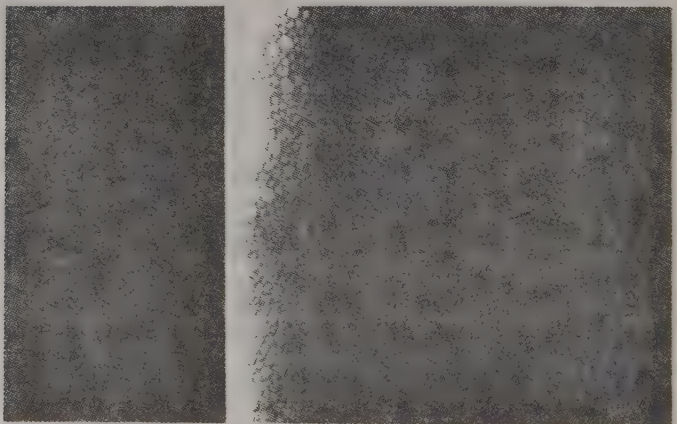


Abbildung IV : Endothelfoto

4. Ergebnisse

4.1 Nachweis der Ablösung von kultivierten Kornea- endothelzellen durch Alpha-Chymotrypsin

Die Empfindlichkeit von Endothelzellen gegenüber Alpha-Chymotrypsin läßt sich am Modell der kultivierten Rinderendothelien darstellen. Zellkulturen von bovinen Endothelien zeigen ein polygonales Muster in einem einschichtigen Zellrasen (Abbildung V).

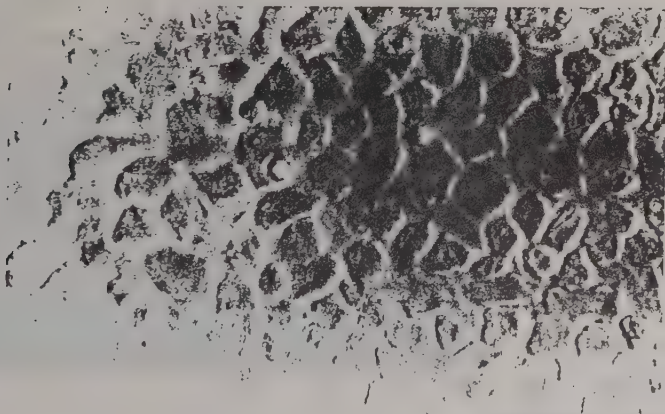


Abbildung V : Endothelzellen in Zellkultur

Nach Entfernen des Kulturmediums und Überschichten des Zellrasens mit Alpha-Chymotrypsin mit einer Verdünnung 1:5000 bei einer Temperatur von ca. 25° C lösen sich die kultivierten Endothelzellen einzeln von ihrer Unterlage ab, nachdem sie ihre polygonale Struktur aufgegeben haben. Abgelöste Zellen befinden sich dann als kugelige Elemente in Lösung (Abbildung 6).

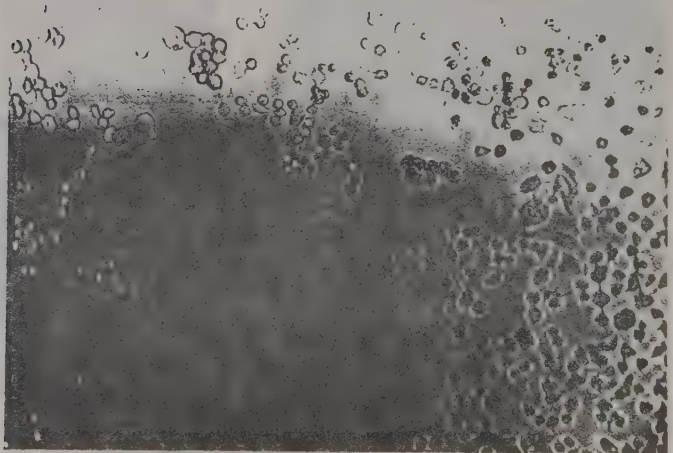
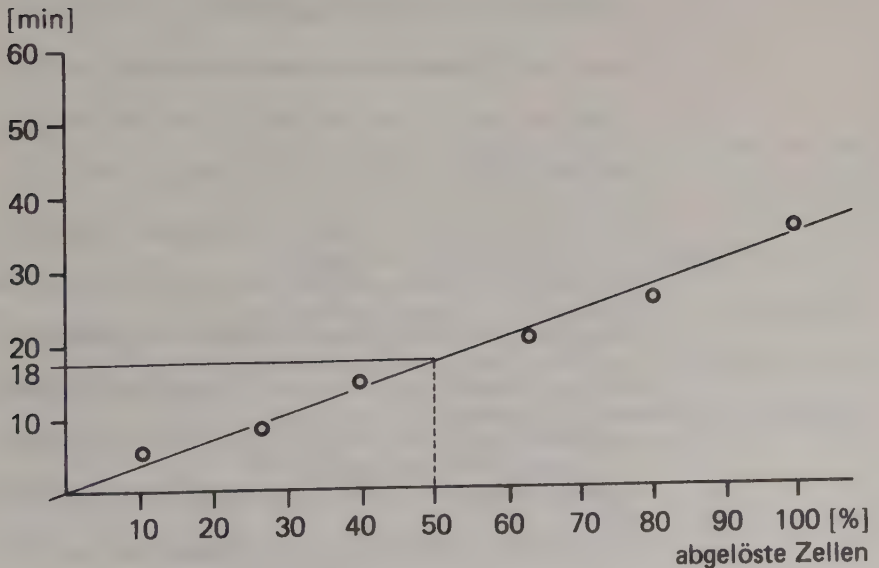


Abbildung VI : Zellen auf Nährboden und abgelöste Zellen

Die Zahl der durch Alpha-Chymotrypsin von ihrer Unterlage abgelösten Endothelzellen läßt sich als Funktion der Zeit darstellen. Figur 1 zeigt eine typische Ablösungs-Zeitrelation, aus der das Verhältnis der abgelösten zu noch adhären-ten Zellen hervorgeht. Aus der Figur 1 geht hervor, daß 50% aller Zellen nach ca. 17 Minuten von der Unterlage gelöst sind; zu einer vollständigen Ablösung aller sich am Kulturboden befindlichen Zellen ist es noch ca. 35 Minuten gekommen.



Figur 1 : Ablösung der Endothelzellen im Verhältnis zur Zeit

4.2 Gruppeneinteilung, Alters- und Geschlechtsverteilung sowie Einteilung der Kataraktformen der untersuchten Patienten

Zum Erhalt gesicherter Daten bei der Auszählung kornealer Endothelzellen waren mindestens 2 Photographien bei der ersten Kontrolluntersuchung mit mindestens 5 oder mehr Kästchen geplant. Bei der Auswertung sämtlicher Endothelphotographien zeigte sich jedoch, daß nur bei 13 Augen in der Gruppe mit enzymatischer Zonulolyse und bei 21 Augen ohne Alpha-Chymotrypsinbehandlung dieses Kriterium erfüllt worden war. Damit ergibt sich, daß sehr sichere Daten nur von diesen 34 Augen vorliegen, die nachfolgend als Gruppe I bezeichnet wird. Die Gruppe II besteht aus Patienten von denen jeweils nur 1 Dia bei Erst- und Kontrolluntersuchung mit mindestens 5 Kästchen ausgezählt werden konnte. Bei diesen Augen gilt die Auszählung als weniger sicher. Zusammenfassend entfielen auf die Gruppe II 19 Augen mit Zonulolyse und 25 Augen ohne Zonulolyse.

Tabelle 1

Alters - und Geschlechtsverteilung der Patienten ohne enzymatische Zonulolyse Gruppe I		
Alter min.	62	Jahre
max.	86	"
Mittel	77	"
Geschlecht		
Männer	8	
Frauen	13	
gesamt	21	

Die Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten ohne enzymatische Zonulolyse (Gruppe I) wird in Tabelle 1 wiedergegeben. Insgesamt finden sich in dieser Gruppe 21 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 77 Jahren, bei einer Streuung von 62 bis 86 Jahren. Die Gruppe I besteht aus 8 Männern und 13 Frauen.

Eine entsprechende Aufteilung nach Alter und Geschlecht ohne Alpha-Chymotrypsin behandelten Patienten der Gruppe II wird in Tabelle 2. gegeben. Es handelt sich um ein Gesamtkollektiv von 25 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 79 Jahren, dabei war der jüngste Patient 63 und der älteste 90 Jahre alt. Unter den 25 Patienten fanden sich 10 Männer und 15 Frauen.

Tabelle 2

Alters - und Geschlechtsverteilung der Patienten ohne enzymatische Zonulolyse Gruppe II	
Alter min.	63 Jahre
max.	90 "
Mittel	79 "
Geschlecht	
Männer	10
Frauen	15
gesamt	25

In der Tabelle 3 werden die Patienten nach Alter und Geschlecht aufgeteilt, die mit Alpha-Chymotrypsin behandelt wurden. Es handelt sich dabei um die Gruppe I. Insgesamt fanden sich in dieser Gruppe 13 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 68 Jahren zwischen 45 und 86 Jahren. Die Gruppe setzt sich aus 3 Männern und 10 Frauen zusammen.

Tabelle 3

Alter - und Geschlechtsverteilung der Patienten mit enzymatischer Zonulolyse Gruppe I		
Alter	min.	45 Jahre
	max.	86 "
	Mittel	68 "
Geschlecht		
	Männer	3
	Frauen	10
	gesamt	13

Die 19 Patienten, die mit Zonulolyse Katarakt-extrahiert wurden und sich der Gruppe II zuordnen ließen, setzten sich aus 10 Männern und 9 Frauen zusammen. Diese Patienten waren durchschnittlich 60 Jahre alt, das Alter verteilt sich zwischen 45 und 80 Jahren.

Tabelle 4

Alters - und Geschlechtsverteilung der Patienten mit enzymatischer Zonulolyse		
Gruppe II		
Alter min.	45	Jahre
max.	80	"
Mittel	60	"
Geschlecht		
Männer	10	
Frauen	9	
gesamt	19	

Die Indikation zum Gebrauch einer enzymatischen Zonulolyse bei der intracapsulären Kataraktextraktion läßt sich wie unter Material und Methoden bereits beschrieben auch aus der Form der Linsentrübung ableiten. In diesem Sinne ergibt sich die Tabelle 5, die Auskunft über die Kataraktform aller Patienten ohne enzymatischer Zonulolyse gibt. Daraus geht hervor, daß sich von den 46 Augen (Tabelle 1 und Tabelle 2) insgesamt 46 mal die Diagnose Cataracta senilis nuclearis, Cataracta senilis corticalis et nuclearis und Cataracta senilis matura fand.

Tabelle 5

Cataractformen der Augen ohne enzymatische Zonulolyse	
Cat. senilis nuclearis	19
Cat. senilis nuclearis et corticalis	22
Cat. matura	5
Cat. intumescens et Morgagni	0
Cat. praesenilis	0
Cat mit Myopie	0
gesamt	46

Dem gegenüber werden in der Tabelle 6 die Kataraktformen aller Augen mit Behandlung durch Alpha-Chymotrypsin zusammengefaßt. Im einzelnen ergibt sich dabei eine Indikation für die enzymatische Zonulolyse wegen Cataracta intumescens bzw. Cataracta morgagni 4 mal, wegen Cataracta praesenilis 9 mal und wegen Myopie 19 mal.

Tabelle 6

Cataractformen der Augen mit enzymatische Zonulolyse

Cat. senilis nuclearis	0
Cat. senilis nuclearis et corticalis	0
Cat. matura	0
Cat. praesenilis	9
Cat mit Myopie	19
Cat intumescens et Morgagni	4
gesamt	32

4.3. Bestimmung präoperativer Endothelzellzahlen

Bei allen Äugen, denen mindestens 2 Endothel-
photographien mit jeweils 5 Kästchen der Auszäh-
lung zugrunde lag, sind in der Tabelle 7 zusammen-
gefaßt. Bei den Patienten, die ohne Zonulolyse
operiert wurden, fanden sich an 19 Äugen eine
durchschnittliche Endothelzellzahl von 2 066.
Mit Alpha-Chymotrypsin fanden sich bei 13 Äugen
2 084 Endothelzellen pro mm^2 . Das ergibt einen
Durchschnitt von 2 073 Endothelien pro mm^2 bei
32 Äugen.

Tabelle 7

Zahl der cornealen Endothelzellen praeoperativ Gruppe I		
	Äugen	Zellzahl/ mm^2
ohne Zonulolyse	19	2066
mit Zonulolyse	13	2084
gesamt	32	2073

Ließ die Qualität der gewonnenen Endothelphotographien jeweils nur 1 Photo mit 5 Kästchen zur quantitativen Auszählung der Zellen an der Hornhau-trückfläche zu (Gruppe II), wurden diese Zahlen in der Tabelle 8 zusammengefaßt. Die prä-operativen Zellzahlen ergaben bei 25 Augen ohne Zonulolyse 1 968 Endothelien pro mm^2 , während bei Patienten, die später mit Alpha-Chymotrypsin behandelt wurden, 1 963 Zellen bei 21 Augen gefunden wurden. Insgesamt ergibt sich daraus bei 46 Augen eine Endothelzellzahl von 1965 Zellen pro mm^2 .

Tabelle 8

Zahl der cornealen Endothelzellen praeoperativ		
Gruppe II		
	Augen	Zellzahl / mm^2
ohne Zonulolyse	25	1968
mit Zonulolyse	21	1963
gesamt	46	1964

deren präoperative Endothelzellzahl in Tabelle 9 zusammengefaßt sind. Es fanden sich damit bei 46 Augen, die ohne Zonulolyse behandelt wurden, 2 017 und bei 32 Patienten, die später mit Alpha-Chymotrypsin behandelt wurden, 2 024 Endothelien pro mm². Damit ergibt sich zu Beginn der Untersuchung eine fast identische Endothelzell-dichte an der Hornhau-trückfläche.

Tabelle 9

Zahl der cornealen Endothelzellen praeoperativ		
	Augen	Zellzahl / mm ²
ohne Zonulolyse	46	2017
mit Zonulolyse	32	2024
gesamt	78	2021

4.4 Postoperative Endothelzellzahl

Die Zahl der kornealen Endothelzellen pro mm^2 6 Monate nach Kataraktextraktion ohne enzymatische Zonulolyse sind in Tabelle 10 wiedergegeben. Bei 21 Augen der Gruppe I fand sich eine durchschnittlich Zellzahl von 1690 Endothelien pro mm^2 , bei 25 Augen der Gruppe II lag diese Zahl bei 1596 Zellen pro mm^2 . Das ergibt eine durchschnittliche Zellzahl bei 46 Patienten von 1643 Endothelien pro berechneter Fläche. Bei 32 Patienten, die 6 Monate zuvor eine intracapsuläre

Tabelle 10

Zahl der cornealen Endothelzellen postoperativ ohne Zonulolyse		
	Augen	Zellzahl/ mm^2
Gruppe I	21	1690
Gruppe II	25	1596
gesamt	46	1643

Kataraktextraktion mit enzymatischer Zonulolyse durchgemacht haben, fanden sich in der Gruppe I bei 13 Patienten 1625 Endothelien pro ausgezählten mm^2 , während bei 19 Patienten der Gruppe II 1617 Zellen pro Flächeneinheit ausgerechnet wurde. Das ergibt ein Gesamtkollektiv von 32 Patienten mit einer durchschnittlichen Zellzahldichte von 1621 Zellen pro mm^2 .

Tabelle 11

Zahl der cornealen Endothelzellen postoperativ mit Zonulolyse		
	Augen	Zellzahl/ mm^2
Gruppe I	13	1625
Gruppe II	19	1617
gesamt	32	1621

Aus den in Tabelle 10 und 11 enthaltenen absoluten Zellzahlen an der Hornhau-trückfläche können die Endothelzellzahlverluste der einzelnen Gruppen untereinander verglichen werden. Die Tabelle 12 zeigt, daß bei 21 Patienten in der Gruppe I 6 Monate nach Kataraktextraktion ohne enzymatische Zonulolyse der Verlust 376 Zellen pro mm^2 beträgt, während er bei 25 Patienten der Gruppe II bei 372 Zellen liegt. Bei 13 Patienten fand sich nach Kataraktextraktion mit enzymatischer Zonulolyse die Zellzahl pro mm^2 um 459 Zellen vermindert, bei 19 Patienten der Gruppe II lag diese Zahl bei 346. Aus den Mittelwerten des Gesamtkollektivs der Patienten mit bzw. ohne

enzymatischer Zonulolyse ergibt sich damit ein prozentualer Endothelzellverlust ohne Anwendung von Alpha-Chymotrypsin 6 Monate nach intracapsulärer Kataraktextraktion von 18,5% bei 46 Patienten, während bei 32 Patienten die Vergleichszahl bei 19,3% lag.

Tabelle 12

Verlust von cornealen Endothelzellen postoperativ		
ohne Zonulolyse	Augen	Zellzahl/mm ²
Gruppe I	21	376
Gruppe II	25	372
gesamt	46	374
mit Zonulolyse		
Gruppe I	13	459
Gruppe II	19	346
gesamt	32	403

4.5 Statistische Auswertung

Die berechneten Endothelzellzahlverluste nach intracapsulärer Kataraktextraktion mit und ohne Zonulolyse sollten wegen der geringen Zahl der Einzelbeobachtungen nicht prozentual berechnet werden. Die Statistische Analyse erfolgt nach dem χ^2 - Test.

Die Zellzahldifferenz vor und nach Operation wird in drei Gruppen eingeteilt : Zellzahldifferenzen zwischen null bis zwei Zellen pro Kästchen, von drei bis vier Zellen pro Kästchen und Zellzahldifferenzen von fünf Zellen aufwärts. So entstand für das Gesamtkollektiv Tabelle 13.

Tabelle 13

Gesamtkollektiv	Differenz an Zellen			Anzahl Augen
	0 - 2	3 - 4	5 -	
ohne Zonulolyse	9	29	8	46
mit Zonulolyse	11	14	7	32
gesamt	20	43	15	78

Diese Tabelle wurde durch Bildung der Randsummen zu einer Kontingenztafel vervollständigt und mit dem χ^2 - Test der Unterschied zwischen den Zeilen geprüft. Als Signifikanzgrenze für die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde 0,05 festgelegt.

Wenn man in Tabelle 13 die Gesamtzahl der ohne Zonulolyse operierten 46 Augen mit den mit Zonulolyse operierten 32 Augen vergleicht, ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Nach dem χ^2 - Test liegt eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $2\alpha = 22\%$ vor. χ^2 ist 3,08 .

Führt man dasselbe für die Gruppe II, in der jeweils mindestens nur ein Dia mit mindestens fünf Kästchen zur Auszählung gelangte, durch, so erhält man die Werte der Tabelle 14 .

Tabelle 14

Gruppe II	Differenz an Zellen			Anzahl Augen
	0 - 2	3 - 4	5 -	
ohne Zonulolyse	6	17	2	25
mit Zonulolyse	10	6	3	19
gesamt	16	23	5	44

Für Gruppe II erhält man zwar im Vergleich zum Gesamtkollektiv eine kleinere Irrtumswahrscheinlichkeit, jedoch wird auch hier die Signifikanzgrenze von 0,05 nicht erreicht.
 $2\alpha = 7\%$, χ^2 ist 5,7 .

Tabelle 15

Gruppe I	Differenz an Zellen			Anzahl Augen
	0 - 2	3 - 4	5 -	
ohne Zonulolyse	3	12	6	21
mit Zonulolyse	1	8	4	13
gesamt	4	20	10	34

Wenn man von der Gruppe I mit den sehr zuverlässigen Daten die ohne Zonulolyse operierten 21 Augen mit den 13 mit Zonulolyse operierten Augen in Tabelle 15 vergleicht, ergibt sich nach dem χ^2 - Test eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $2\alpha = 80$ bis 90% . Es besteht demnach kein signifikanter Zellzahlverlust zwischen Augen, die mit Zonulolyse operiert wurden im Vergleich zu den Augen, die ohne Zonulolyse Katarakt extrahiert wurden.

5. Diskussion

Das mesodermale Endothel liegt der Hornhau-trückfläche einschichtig auf. Es handelt sich in der Aufsicht um hexagonale Zellen, die eine Dicke von ca. 4 μ aufweisen. Beim Erwachsenen finden sich praktisch keine Mitosen mehr, so daß Defekte nur durch Flächenausdehnung vorhandener Nachbarzellen ausgeglichen werden können. Das korneale Endothel spielt eine wichtige Rolle im Wassergehalt des Hornhautstromas und damit für die Transparenz der Kornea. Das Endothel sitzt einer spezifischen Basalmembran - Descemet'scher Membran - auf; bei dem Pumpmechanismus der Endothelzellen spielt Bicarbonat offensichtlich eine entscheidende Rolle.

Die ersten in vivo Beschreibungen des kornealen Endothels stammen von VOGT, der 1918 die Endothelien der Hornhaut erstmals beschrieben hatte (71). Die heute verwendeten Endothelmikroskope gehen auf Verfahren von MAURICE (1968) zurück, der kontaktoptische Verfahren angegeben hatte. Weiterentwicklungen auf diesem Sektor wurden von LAING (1973), BURN (1974) und KAUFMANN (19 , 115, 116) sowie von SCHERRATH (103) angegeben. Daneben wird auch

eine non-contact-Methode zur Darstellung des kornealen Endothels verwandt, die wesentlichen Untersuchungen gehen auf BROWN (122), BRON (123), LAULE (117) und OLSEN (1979) zurück. SUNDMACHER beschrieb 1980 einen einfachen Mikroskopzusatz, der an die Zeiss-Spaltlampe 30 sLM und 75 sl angebracht, eine Vitalbeobachtung der Endothelzellen erlaubte. Verschiedene Methoden der Spiegelmikroskopie wurden von GRABNER (1977), WARING (102) und WELT (84) verglichen. Verfahren zur Endothelzellzahlbestimmung zu transplantierender Hornhäute stammen von BIGAR (79,109) und BLECKMANN (82)

Veränderungen der kornealen Transparenz menschlicher Hornhäute lassen sich durch typische morphologische Veränderungen der kornealen Endothelzellen charakterisieren. Als morphologische Merkmale gelten Zellzahl, Zellgröße, Zahl der aneinandergrenzenden Zellen, Polygonalität sowie Durchmesser und Fläche der einzelnen Endothelzellen. Neben diesen in vivo Kriterien lassen sich selbstverständlich histologische bzw. elektronenmikroskopische Endothelmerkmale wie Hemidesmosomen, tight junctions, intrazelluläre Fibrillen sowie das Verhältnis von Kern zu Zellfläche angeben. Typische

biomikroskopische Endothelveränderungen der Hornhaut lassen sich unterteilen in degenerative Erkrankungen, z.B. Cornea guttata, hintere polymorphe Hornhautdystrophie, (Schlichting) sowie entzündliche wie z.B. bei Keratitis parenchymatosa, Iridocyclitis, Heterochromie Cyclitis und Zoster ophthalmicus. Endothelzellverluste sind aber auch bekannt bei verschiedenen Glaukomformen sowie nach bulbuseröffnenden Operationen.

Von großem praktischen Interesse ist das Verhalten der Endothelzellen nach Kataraktoperationen in Abhängigkeit verschiedener Operationsverfahren. Auch der Einfluß von intraocularen Linsen ist deutlich nachzuweisen (88, 89, 90, 91, 92, 107). Als besonders wichtig erscheint der Zeitpunkt, zu dem eine postoperative Endothelzell-dichte bestimmt wurde, da bekannt ist, daß die Verschiebung der vorhandenen Endothelzellen in ein geschädigtes Gebiet nach einem halben Jahr abgeschlossen ist.

Durchschnittliche Endothelzelldichten der Hornhaurückfläche sind sehr unterschiedlich beschrieben worden: Nach BIGAR finden sich 2 426 Zellen pro mm^2 bei einer

Normalbevölkerung zwischen 70 und 79 Jahren (Literatur 109), nach HOFFER (Literatur 88) und BURN (Literatur 75, 120) ca. 1 600 bis 4 000 Zellen. WELT (84) und HOFFER (114) geben eine Normalzelldichte des Erwachsenen zwischen 2 500 bis 3 300 Zellen pro mm^2 an. Nach OLSEN (83) beträgt sie im Alter zwischen 20 und 30 Jahren 3 032 Zellen und im Alter zwischen 70 und 80 Jahren 2 500 Zellen pro mm^2 . MICHIMA (Literatur 125) gibt die Endothelzelldichte des älteren Menschen mit 3 300 Zellen pro mm^2 an. Die Abhängigkeit der Endothelzellzahl vom Alter scheint in der Literatur nicht endgültig geklärt zu sein. Nach den Untersuchungen von LAING (118) und LAULE (117) fanden sich bei 97 Frauen und 55 Männern im Alter zwischen 3 und 88 Jahren eine Altersabhängigkeit, die bei 3jährigen ca. 4 500 Zellen, bei 25jährigen 2 850 Zellen und bei 60jährigen 2 200 Zellen pro mm^2 nachwies. OLSEN (83) und MICHIMA (125) konnten diese deutliche Alterabhängigkeit nicht bestätigen, während HOFFER (114) nachwies, daß ab dem 40. Lebensjahr die Endothelzellzahl sich praktisch nicht mehr verändert.

Letztlich nicht geklärt ist weiterhin die Frage, ob signifikante Unterschiede in der Endothelzelldichte

in Abhängigkeit der verschiedenen Hornhautarealen vorliegen. AZEN (106) fand in den oberen Hornhautbereichen die Dichte 7% höher gegenüber dem Zentrum, in den unteren Arealen jedoch 6% geringer. BLACKWELL (Literatur 119) und HOFFER (88) fanden keine signifikanten Unterschiede der Endothelzellen.

Es ist bisher nicht bekannt, welchen Einfluß die enzymatische Zonulolyse mit Alpha-Chymotrypsin auf die Endothelzellzahl nach intracapsulärer Kataraktextraktion hat. Bei in vitro Versuchen mit kultivierten Endothelzellen jedoch zeigt sich, daß Alpha-Chymotrypsin kultivierte Endothelzellen in Abhängigkeit von der Zeit von der Unterlage ablösen kann. Die Ablösung mit Trypsin ist sogar für die weitere Anzüchtung dieser Zellen zur Routinemethode geworden. Dieses Verfahren jedoch läßt sich nicht unmittelbar auf die Verhältnisse in vivo anwenden, da es sich bei kultivierten Endothelzellen in der Regel nicht um humane Endothelien handelt, da die kultivierten Endothelien von einer Kunststoffplatte gelöst werden und diese Endothelien eine sehr hohe Mitoserate aufweisen, die sie im Gegensatz zu den

in vivo Verhältnissen als Zellen hoher metabolischer Aktivität kennzeichnen.

Zur Beurteilung der Frage, in welchem Ausmaß die enzymatische Zonulolyse mit Alpha-Chymotrypsin bei der intracapsulären Kataraktextraktion einen Einfluß auf die Endothelzellzahl der Hornhaut ausübt, wurde in der vorliegenden Arbeit ^{die} durchschnittliche Endothelzellzahl pro mm² angegeben. Obwohl auch andere Kriterien wie Zellgröße, quantifizierbarer Zellkontakt, Zelldurchmesser und Zellfläche ist in dieser Arbeit ausschließlich auf die Zahl der Endothelien pro definiertem Areal eingegangen worden. Die ermittelte Endothelzellzahl pro mm² eines altersgemäßen Patientenkollektivs läßt deutliche Übereinstimmung mit fast allen Literaturangaben erkennen. (Literatur 75, 83, 88, 89, 114, 120, 125).

Der relative Endothelzellverlust nach intracapsulärer Kataraktextraktion findet sich ebenfalls in einer Größenordnung, wie es aus der Literatur bereits bekannt ist; dabei finden sich in den Extremwerten zwischen 10 und 40% Durchschnittsangaben zwischen 15 und 22% (Literatur 75, 83, 88, 90, 91, 92, 109, 114, 120, 121, 125)

Bei Auswertung der uns zur Verfügung stehenden Endothelphotographien zeigte sich, daß bei einem Teil der Patienten die Qualität der entstandenen Photos unzureichend war. Patienten, bei denen lediglich 5 Kästchen eines Dias ausgewertet werden konnten, sind deshalb als Gruppe II klassifiziert worden. Gründe für diese schlechte Ausbeute lassen sich angeben als Alter der Patienten, Unfähigkeit an der Spaltlampe still zu sitzen, Unsicherheit über die ausführende Untersuchung. Auf der anderen Seite ließ sich zeigen, daß die Auswertung von nur 5 Kästchen keinen wesentlichen Unterschied aufwies zur Gruppe der Patienten, bei denen 10 und mehr Kästchen ausgezählt wurde. Aus diesem Grund ist die Gruppe der ursprünglich eher ungesicherten Daten zur Gruppe gesicherte Daten zugeordnet worden, um letztlich von einer höheren Patientenzahl den Einfluß des Alpha-Chymotrypsin auf die Dichte kornealer Endothelzellen berechnen zu können.

Die non-contact-Endothelmikroskopie ist mit einer Reihe von methodischen Fehlermöglichkeiten behaftet, die auch in diese Untersuchungsergebnisse mit eingingen:

1. Einem großen Teil der hier untersuchten Patienten im höheren Lebensalter ergaben sich Schwierigkeiten, Endothelaufnahmen der zentralen Areale zu erhalten, wenn die Fixation mit dem anderen Auge nicht über längere Zeit konstant gehalten werden konnte. Fixationunruhe wurde außerdem durch den Umstand begünstigt, daß fast alle Endothelphotos am Tag vor der Kataraktextraktion ausgeführt wurde, nachdem alle anderen präoperativen Untersuchungen abgeschlossen waren und die Patienten sich erschöpft fühlten. Nach den gewonnenen Erfahrungen scheint es sinnvoller, bei zukünftigen Studien die Endothelaufnahmen am Tage vor der Aufnahme in der Klinik durchzuführen.

2. Die Absicht, Endothelzellveränderungen aus der Hornhautmitte als repräsentatives Areal für zu erwartende Veränderungen photographiert zu haben, kann nicht für alle Untersuchungen bestätigt werden. In der Regel beginnt die Fokussierung bei non-contact Aufnahme am Limbus, durch eine seitliche Verschiebung lassen sich dann mehr oder weniger zentrale Areale des Hornhautendothels klar abbilden. Auch bei unveränderter Fixation des Patienten läßt

sich jedoch nicht sicher ausschließen, daß auch parazentrale Endothebereiche dargestellt werden.

3. Unschärfen der Abbildung einzelner Hornhautendothelien nehmen in dem Maße zu, wie die Zahl der ausgezählten Kästchen ansteigt. Der Versuch, mindestens 10 Kästchen mit Endothelzellen auszuzählen, muß damit auch einhergehen mit einer zunehmenden Zahl von lokalen Unschärfen und damit zu einer möglichen Zunahme von Fehlerquellen.
4. Die Nachuntersuchung aller Patienten hinsichtlich des Effektes einer intracapsulären Kataraktextraktion mit und ohne Zonulolyse sind 6 Monate nach dem Operationstermin durchgeführt worden. Dieses geschah in der Annahme, daß zu erwartende Endothelverluste sich zu diesem Zeitpunkt durch Migration und Vergrößerung der Zellen kompensiert haben. Es kann jedoch nicht mit Sicherheit ausgesagt werden - und eine entsprechende Literaturangabe ließ sich nicht auffinden -, ob sich auch nach 6 Monaten operationsbedingte Endothel-

verschiebungen ergeben können.

5. Eine gewisse Fehlerquelle muß durch eine individuelle Auszählung aller Endothelzellen pro Fläche hingenommen, im Gegensatz zu Untersuchung mit computergesteuerten Zähl-verfahren. Dieser Faktor mag die Unterschiede erklären, die das absolute Zahlenverhältnis von 2 000 Zellen pro mm^2 dieser Untersuchung gegenüber 2 200 bis 2 300 Zellen pro mm^2 in der Literatur wiedergeben. Man kann jedoch davon ausgehen, daß es diese mögliche Fehlerquelle in gleicher Weise in beiden Kollektiven einstellen und somit keinen Einfluß auf das Ergebnis einer zusätzlichen Endothelzellverminderung durch den Gebrauch von Alpha-Chymotrypsin hat.
6. Nach OLSEN (110) muß bei der non-contact Methode wegen des schrägen Beobachtungswinkels von 23° ein Korrekturfaktor von 0,959 bei der Endothelzellzählung berücksichtigt werden. In der hier verwandten Versuchsanordnung ergab sich für die optimale Darstellung von kornealen Endothelzellen ein Beleuchtungswinkel von 45° . Da in der Literatur

für diesen Winkel keinen Korrekturfaktor angeführt ist, wurde auf eine Umrechnung gänzlich verzichtet. Es muß jedoch betont werden, daß der Gebrauch eines entsprechenden Korrekturfaktors lediglich die absoluten Zahlen von Endothelien pro mm², jedoch nicht den Vergleich zweier in gleicher Weise durchgeführten Kollektive beeinflussen kann.

Die vorliegende Untersuchung über die Anzahl des postoperativen Endothelzellverlustes mit und ohne Gebrauch von Alpha-Chymotrypsin läßt den Schluß zu, daß nach statistischen Kriterien durch Alpha-Chymotrypsin kein zusätzlicher Schaden zu erwarten ist. Trotz der inzwischen weiter entwickelten Endothelphotographie durch Anwendung des Kontaktprinzips als Weitwinkelphotographie, lassen die vorliegenden Untersuchungen erkennen, daß die Peptidase Alpha-Chymotrypsin bei der Extraktion bestimmter Kataraktformen nur unwesentlich in die Zahl postoperativer Endothelzellbefunde eingeht.

8. Zusammenfassung

Von 78 Augen wurden vor und nach intrakapsulärer Katarakt - Operation Endothelfotos mit der Non - Kontakt - Methode angefertigt und die Endothelzellzahldifferenz ermittelt. Die Kontrollgruppe umfaßte 46 Augen. 32 Augen wurden mit enzymatischer Zonulolyse operiert. Beide Kollektive wurden in je zwei Untergruppen unterteilt, in eine Gruppe I mit sehr zuverlässigen Daten und eine Gruppe II, bei der die Auszählung als weniger sicher angenommen wurde. Zur Gruppe I gehören 13 Augen, die mit enzymatischer Zonulolyse operiert wurden, und 19 Augen ohne Alpha - Chymotrypsinbehandlung. In der Gruppe II wurden 21 Augen mit enzymatischer Zonulolyse operiert, und 25 Augen standen als Kontrollgruppe zur Verfügung. Die durchschnittliche Endothelzellzahl betrug vor der Operation für das Gesamtkollektiv 2021 Zellen pro mm^2 . Die statistische Auswertung erfolgte mit dem χ^2 - Test. Es fand sich kein signifikanter Unterschied in der Abnahme der Zellzahl nach der Operation bei den Augen die mit enzymatischer Zonulolyse operiert wurden im Vergleich zu den Augen, die ohne Zonulolyse operiert wurden.

Tabelle 1

Patienten, die ohne enzymatische Zonulolyse mit
Alpha - Chymotrypsin operiert wurden
Gruppe I

Pat. Nr.	Alter	Auge	vor/nach Kat.Op	Anzahl Dias	Anzahl Kästchen	Anzahl Zellen pro Käst.	Differenz
1	77	RA	vor	2	7	22	4
			nach	2	7	18	
2	85	LA	vor	2	5	20	5
			nach	2	5	15	
3	84	RA	vor	2	6	20	2
			nach	2	6	18	
4	78	LA	vor	2	10	25	5
			nach	2	10	20	
5	62	RA	vor	2	7	21	3
			nach	4	10	18	
6	82	RA	vor	2	8	20	5
			nach	3	8	15	
7	76	RA	vor	2	5	20	4
			nach	2	10	16	
8	79	RA	vor	2	5	16	2
			nach	2	10	14	
		LA	vor	ø			
			nach	3	10	14	
9	67	RA	vor	2	10	23	5
			nach	3	10	18	
10	85	RA	vor	2	5	20	4
			nach	2	5	16	
		LA	vor	ø			
			nach	2	5	16	
11	77	RA	vor	2	10	25	5
			nach	6	10	20	
		LA	vor	2	10	25	
			nach	5	10	20	
12	83	RA	vor	ø			16
			nach	2	5	15	
		LA	vor	2	8	20	
13	86	LA	nach	5	10		4
			vor	2	8	20	
14	78	LA	vor	2	8	22	4
			nach	2	10	18	
15	72	RA	vor	ø			4
			nach	2	8	18	
		LA	vor	2	5	20	
			nach	2	5	16	

7. Tabellen mit Angaben der Patienten, Alter, Auge
Anzahl der ausgezählten Kästchen, Anzahl der Zellen
pro Kästchen sowie Zellzahldifferenz vor und nach der
Operation

Tabelle 1 Fortsetzung

Pat. Nr.	Alter	Auge	vor/nach Nat. CP	Anz. Dias	Anzahl Kästchen	durchschn. Anzahl Zellen	Diff.
16	79	LA	vor	2	3	22	
			nach	2	5	19	3
17	66	LA	vor	2	5	15	
			nach	3	5	15	0
18	71	RA	vor	4	10	19	
			nach	2	5	16	3
19	82	RA	vor	2	8	20	
			nach	3	8	16	4
20	62	RA	vor	2	5	19	
			nach	2	8	15	4

Tabelle 2

Patienten, die ohne enzymatische Zonulolyse
mit Alpha - Chymotrypsin operiert wurden

Gruppe II

Pat. Nr.	Alter	Auge	vor/nach Kat.OP	Anz. Dias	Anzahl Kästchen	durchschn. Anzahl Zel. pro Käst.	Differenz
21	72	RA	vor	ø			
			nach	2	5	14	
		LA	vor	2	5	18	
			nach	2	3	14	4
22	87	LA	vor	1	5	21	
			nach	3	10	17	4
23	63	RA	vor	1	5	16	
			nach	1	5	14	2
		LA	vor	ø			
			nach	1	5	15	
24	83	RA	vor	1	5	15	
			nach	1	5	12	3
		LA	vor	1	5	15	
			nach	1	5	12	3
25	81	RA	vor	ø			
			nach	1	7	12	
		LA	vor	1	7	15	
			nach	1	7	12	3
26	77	RA	vor	2	7	20	
			nach	1	7	16	4
27	74	LA	vor	2	8	23	
			nach	1	8	20	3
28	86	RA	vor	1	10	19	
			nach	2	10	15	4
		LA	vor	1	10	19	
			nach	2	5	12	7
29	77	LA	vor	2	8	18	
			nach	2	10	14	4
30	84	RA	vor	2	5	18	
			nach	1	5	14	4
31	78	RA	vor	1	5	20	
			nach	2	10	16	4
32	84	LA	vor	1	5	20	
			nach	2	8	18	2
33	80	RA	vor	1	5	19	
			nach	2	7	16	3
		LA	vor	ø			
			nach	1	5	12	
34	83	RA	vor	2	7	18	
			nach	1	10	14	4

Tabelle 2 Fortsetzung

Pat. Nr.	Alter	Auge	vor/nach Kat.OP	Anz. Lias	Anzahl Kästchen	durchschn. Anz. Zellen pro Käst.	Differenz
35	75	RA	vor	1	10	25	
			nach	1	5	23	2
		LA	vor	1	7	27	
			nach	1	5	26	1
36	64	RA	vor	1	8	18	
			nach	1	5	14	4
37	87	RA	vor	2	4	15	
			nach	3	3	10	5
38	90	LA	vor	1	5	19	
			nach	3	10	17	2
39	82	RA	vor	1	5	25	
			nach	1	5	22	3
		LA	vor	1	6	27	
			nach	1	7	25	2
40	80	RA	vor	1	5	20	
			nach	1	5	16	4
41	80	LA	vor	1	5	20	
			nach	1	5	16	4

Tabelle 3

Patienten, die mit enzymatischer Zonulolyse
mit Alpha - Chymotrypsin operiert wurden

Gruppe I

Pat. Nr.	Alter	Auge	vor/nach Kat.OP	Anz. Dias	Anzahl Kästchen	durchschn. Anzahl Zel. pro Käst.	Differenz
42	77	LA	vor nach	2 3	10 10	20 17	3
43	68	RA	vor nach	$\emptyset$ 3	5	10	
		LA	vor nach	2 2	5 5	15 12	3
44	45	RA	vor nach	2 2	5 10	14 10	4
		LA	vor nach	$\emptyset$ 2	5	10	
45	70	RA	vor nach	2	5	28 25	3
46	59	RA	vor nach	2 3	8 8	18 15	3
47	71	RA	vor nach	$\emptyset$ 3	10	18	
		LA	vor nach	3	10 10	25 18	7
48	79	LA	vor nach			26 22	4
49	63	RA	vor nach	2		20 16	4
50	86	LA	vor nach	2 2	5 5	17 14	3
51	53	RA	vor nach	2 3	8 10	21 15	6
52	73	RA	vor nach	3	10	21 19	2
53	78	RA	vor nach	2 2	8 10	20 15	5
54	67	RA	vor nach	2	10	26 20	6

Tabelle 4

Patienten, die mit enzymatischer Zonulolyse
mit Alpha - Chymotrypsin operiert wurden

Gruppe II

Pat. nr.	Alter	Auge	vor/nach Kat.OP	Anz. Dias	Anzahl Kästchen	durchschn. Anzahl Zel. pro Käst.	Differenz
55	70	RA	vor nach	1 3	5 10	22 16	6
56	62	RA	vor nach	1 2	8 10	25 18	7
57	54	RA	vor nach	1 1	5 3	20 18	2
		LA	vor nach	1 1	4	18 16	2
58	59	RA	vor nach	5 1	5 10	20 16	4
		LA	vor nach	1 1	8	16	
59	58	RA	vor nach	1 2	10 10	20 17	3
60	28	LA	vor nach	2 2	5 3	21 17	4
61	45	RA	vor nach	1 1	5 5	17 15	2
		LA	vor nach	1 1	5 5	17 15	2
62	64	RA	vor nach	1 1	7 8	18 17	1
		LA	vor nach	1 1	5 5	17 17	0
63	69	LA	vor nach	1 2	8 5	21 18	3
64	53	RA	vor nach	2 2	10	16	
		LA	vor nach	3 4	8 8	18 16	2
65	47	RA	vor nach	1 2	8 8	18 13	5

Tabelle 4 Fortsetzung

Pat. Nr.	Alter	Auge	vor/nach Kat.OP	Anz. Dias	Anzahl Kästchen	durchschn. Anzahl Zel. pro Käst.	Differenz
66	80	LA	vor nach	1 3	5 10	20 16	4
67	78	RA	vor nach	1 2	5 5	22 20	2
		LA	vor nach	2 $\emptyset$ 2	10	18	
68	79	RA	vor nach	1 1	5 5	23 22	1
69	46	RA	vor nach	1 2	8 3	18 14	4
		LA	vor nach	2 1	10 2	18 18	0

8. Literaturverzeichnis

1. Joaquin Barraquer: Zonulolisis enzimazica. Contribution a la cirugia del cristalino. (Nota previa). (Zonulolysis enzymatica. Beitrag zur Chirurgie der Linse.) An. med. Cir. (Barcelona) 38, 255-266 (1958).
2. Joaquin Barraquer: Totale Linsenextraktion nach Auflösung der Zonula durch α -Chymotrypsin = enzymatische Zonula. Klin. Mbl. Augenheilk. 133, 609-615 (1958).
3. H. Remky: Erfahrungen mit der enzymatischen Zonulyse nach Barraquer. Klin. Mbl. Augenheilkunde 133, 616-619 (1958).
4. E. Walser: Erste Erfahrungen über fermentative Zonulolyse bei der Staroperation. Klin. Mbl. Augenheilk. 133, 619-624 (1958).
5. Hans Remky: Enzymatische Zonulyse, ein wesentlicher Fortschritt der operativen Starbehandlung. Münch. med. wscrh. 1958, 1425.
6. H. Hofmann u. F. Lembeck: Vergleich der zonulolytischen Wirkung von α -Chymotrypsin und Trypsin. Klin. Mbl. Augenheilk. 134, 216-222 (1959).
7. G. Liegl: über Versuche mit Zonulalösung bei Staroperationen. Klin. Mbl. Augenheilk. 135, 241-246 (1959).
8. W. Rohrschneider: Erfahrungen an 320 Staroperationen mit enzymatischer Zonulolyse. Klin. Mbl. Augenheilk. 135, 226-231 (1959).
9. J. Fuchs: Zur enzymatischen Zonulolyse durch Alpha-Chymotrypsin bei der Staroperation. Klin. Mbl. Augenheilk. 135, 52-55 (1959).
10. L. Calmettes, P. Amalric et P. Bessou: L'alphachymotrypsine au cours de l'extraction du cristallin. Référence particulière à la cataracte congénitale. (Das Alpha-Chymotrypsin zur Extraktion der Linse. Empfehlung bedingt für angeborene Stare). Bull. Soc. Ophtal. Fr. 1959, 212-216.
11. H. Campbell Orr: Some observations of the use of chymotrypsin. (Einige Beobachtungen beim Gebrauch von Chymotrypsin.) Brit. J. Ophtal. 43, 330-331 (1959).
12. Witold J. Orłowski: First experiments with the enzymatic zonulolysis. (Die ersten Erfahrungen mit enzymatischer Zonulolyse.) Klin. oczna 29, 249-262 mit engl. Zus.fass. (1959) (Polnisch).
13. P. Velissaropoulos et Chr. Topalis: L'application de l'alphachymotrypsine dans les opérations de cataracte congénitale. (Die Anwendung von Alpha-Chymotrypsin bei der Operation des angeborenen Stares.) Bull. Mém. Soc. franç. Ophtal. 72,

14. M. Radnót und R. Pajor: Die Wirkung des Alpha-Chymotrypsins auf die Hornhaut. Klin. Wbl. Augenheilk. 135, 655-657 (1959).
15. Naohiko Tanaka: Study on enzymatic zonulolysis using alpha-chymotrypsin. (Enzymatische Zonulolyse mit Alpha-Chymotrypsin). Acta Soc. ophtal. jap. 63, 3256-3269 mit engl. Zus.fass. (1959) (Japanisch).
16. H. Fanta u. I. Herold: Spätfolgen nach enzymatischer Zonulolyse. Klin Wbl. Augenheilk. 136, 506-512 (1960).
17. W. Rohrschneider u. H. Friedrich: Spätfolgen nach Staroperationen mit enzymatischer Zonulolyse. Klin. Wbl. Augenheilk. 136, 499-506 (1960).
18. E. Landolt u. H. Heinzen: Pathologisch-anatomische Befunde an zwei mit Alpha-Chymotrypsin cataractoperierten Augen. Ophthalmologica (Basel) 139, 313-322 (1960).
19. Harvey E. Thorpe: Enzymatic zonulolysis. Alpha chymotrypsin, an aid to intracapsular cataract extraction. (Enzymatische Zonulolyse. Alpha-Chymotrypsin, eine Hilfe zur intracapsularen Katarakt-Extraktion.) Amer. J. Ophtal., Ser.3, 49, 531-548 (1960).
20. Gy. Lugossi: Cataract operations with alpha-chymotrypsin and erysiphake. Prelim. report. (Kataraktoperationen mit Alpha-Chymotrypsin und Erysiphaken. vorl. Bericht.) Acta ophtal. (Kbh.) 38, 16-18 (1960).
21. F. Vancea, Veronica Vaighel u. P.P. Vancea: Enzymatische Zonulolyse in der operativen Behandlung der Katarakt. Vorläufige Mitteilung über die ersten, in der ophthalmologischen Klinik aus Iaşi erzielten Ergebnisse. Oftalmologia (Bucureşti), 3, 347-354 mit franz., engl. u. dtsch. Zus.fass. (1959) (Rumanisch).
22. Joaquin Barraquer: Étude critique de la zonulolyse enzymatique. Résumé. (Kritische Studie der Fermentzonulolyse. Zusammenfassung, Bull. Soc. Ophtal. Fr. 1959, 551-553.
23. Joaquin Barraquer: Zonulolisis enzimática. Experiencia personal en 297 casos: resultados y conclusiones. (Enzymatische Zonulolyse. persönliche Erfahrungen in 297 Fällen: Ergebnisse und Schlußfolgerungen.) Maroc. méd. 39, 360-370 (1960)
24. Witold J. Orłowski: The course of the procedure and intra- and postoperative complications in the mechanical and

- chemical disinsertion of Zinn's zonule. (Der Operationsverlauf sowie die intra- und postoperativen Komplikationen bei der mechanischen und chemischen Lösung der Zonula Zinii.) Klin. oczna 20, 265-279 mit engl. Zus.fass. (1960) (Polnisch).
25. Joaquin Barraquer: Enzymatic zonulolysis. Immediate and late results. (Ferment-Zonulolyse. Frühe und späte Resultate.) Oto Nöro Oftal. (Istanbul) 15, 117-127 (1960).
26. Joaquin Barraquer: La zonulolyse enzymatique en 1960. (Die Ferment-Zonulolyse im Jahre 1960.) Arch.Ophthal.(Paris), N.S., 20,829-834 (1960).
27. J.Gibson Moore: Cataract extraction with alpha-chymotrypsin. A controlled trial. (Katarakt-Extraktion mit -chymotrysin. Ein Kontrollversuch.) Brit.J.Ophthal. 45, 197-201 (1961).
28. Patrick J. Kennedy, James S. Jordan, Joseph F. Morrison, Robert D. Mulberger and Stanley W. Boland: Enzymatic zonulolysis as an aid in cataract surgery. A follow-up report on 432 cases with 491 additional cases.(Ferment-Zonulolyse als Hilfe bei der Staroperation. Ein Ergänzungsbericht von 432 Fällen durch 491 zusätzliche Fälle.) Arch.Ophthal. (Chicago) 65,801-804 (1961).
29. Dermot Pierse: Alpha-chymotrypsin in cataract surgery. (α -Chymotrypsin bei der Staroperation.) Trans.ophtal. Soc. U. K. 80,423-433 (1961).
30. H.Gasteiger: Überlegungen zur enzymatischen Zonulolyse. Wien.med.wtschr. 112,935-936 (1962).
31. Joaquin Barraquer: Enzymatic zonulolysis in lens extraction. (Fermentzonulolyse bei der Staroperation.) (109. Ann. Meet.,Amer.Med.Assoc., Miami Beach, Fla.,16. VI. 1960.) Arch. Ophthal. (Chicago) 66,6-11 (1961).
32. J.M.Pawha: Enzymatic zonulolysis in cataract surgery. A review of 432 cases. (Fermentzonulolyse bei der Staroperation. Bericht über 432 Fälle.) (Eye Hosp.,Sitapur, India.) Brit.Ophthal. 45,729-736 (1961).
33. Shogo Hiwatari, Ken Oto, Kimiko Saito and Yoshiko Takati: The study on the effect of α -chymotrypsin on the rabbits eyes. (Untersuchungen über den Einfluß von α -chymotrypsin auf das Kaninchenauge.) (Eye Clin., Nippon Med. Coll., Tokyo.) Acta Soc.ophtal.jap. 65,1043-1048 mit engl. Zus.fass. (1961) (Japanisch).

34. H. Hofmann: Enzymatische Zonulolyse. (65. Zus.kunft, Berlin, 26.-29. IX. 1960.) Ber. dtsh. ophthal. Ges. 1961, 467.
35. H. Hoffmann: Enzymatische Zonulolyse. (Univ.-Augen-
klin., Graz. (65. Zus.kunft, Berlin, 26.-29. IX. 1960.))
Ber. dtsh. ophthal. Ges. 1961, 378-382.
36. W. Graeber und U. Leithäuser: Untersuchungen über
den Einfluß der Pankreasfermente α -Chymotrypsin
und Trypsin auf die Linsenkapsel bei der Katarakt-
extraktion mit enzymatischer Zonulolyse. (Univ.-
Augenklin., Kiel.) Klin. Mbl. Augenheilk. 140,
653-659 (1962).
37. A. Zuccoli: Starextraktion und fermentative Zonu-
lolyse. (Augenabt., Städt. Krankenh., Lugano.)
Ophthalmologica (Basel) 143, 385-392 (1962).
38. Warren A. Wilson: Congenital cataracts. A review
of 72 cases including the use of enzymatic zonulo-
lysis in 15 patients. (Angeborene Stare. Ein Über-
blick über 72 Fälle einschließlich des Gebrauchs
von Ferment-Zonulolyse bei 15 Patienten.) (Dept.
of Surg., Div. of Ophth., Univ. of Southern Califor-
nia School of Med. and Child. Hosp., Los Angeles.)
Arch. Ophthal. (Chicago) 67, 143-147 (1962).
39. W. A. Manschot: Cataract operation with zonulolysis.
(Staroperation mit Zonulolyse.) (144. Meet.,
Netherlands Ophthal. Soc., Utrecht, 12.-13. XII. 1959.)
Ophthalmologica (Basel) 141, 490-494 (1961).
40. D. H. Hoffmann und Th. Waubke: Ergebnisse bei der Kata-
raktextraktion mit und ohne enzymatische Zonulolyse.
(Augenklin., Univ., Hamburg-Eppendorf.) Klin. Mbl.
Augenheilk. 139, 527-533 (1961).
41. Howard F. Hill and Jaquin Barraquer: Some aspects
of the use of enzymatic zonulolysis. (Einige Ge-
sichtspunkte beim Gebrauch der enzymatischen Zonu-
lolyse.) (97. Ann. Meet., Amer. Ophthal. Soc., Hot Springs,
Virginia, June 1961.) Amer. J. Ophthal. 54, 89-95 (1962).
42. Emanuel Rosen: Direct application of alpha chymo-
trypsin in cataract surgery. (Direkte Anwendung von
 α -Chymotrypsin in der Kataraktchirurgie.) Amer. J.
Ophthal. 54, 240-243 (1962).

43. John R.Cassady: Alpha chymotrypsin for lens extraction in infants and children. (Kataraktextraktion mit -Chymotrypsin bei Säuglingen und Kindern.) Arch.Ophthal. (Chicago) 68, 730-733 (1962).
44. J.A.Castrén: To use or not to use zonulolysis in cataract surgery? A study of the results of 940 operations (Soll man die Zonulolyse in der Katarakt-Chirurgie anwenden oder nicht? Eine Studie an Hand von 940 Operationen.) (Dept. of Ophth., Univ., Helsinki.) Acta ophthal. (Kbh.) 40, 608-621 (1962).
45. P.H. Merory: Cataract extraction with chymotrypsin in patients of all age groups. (154 Fälle mit -Chymotrypsin.) Trans.ophtal.Soc.Aust. 21,48-51 (1962).
46. H.Hofmann: Die Staroperation mit fermentativer Lösung der Zonula(Zonulolysis Enzymatica). (Bücherei d. Augenarztes. Hrsg. von R.Thiel.H.41.) Stuttgart: Ferdinand Enke 1963.VIII,110 S.,81 Abb. u. 12 Tab. DM 21,-
47. F.W.Stocker,M.Th.Matton-van Leuven and N. Georgiade: Influence of alpha chymotrypsin on endothelial corneal dystrophy. (Der einfluß von -Chymotrypsin auf die Endotheldystrophie.) (Mc Pherson Hosp. and Duke Univ. School of Med., Dept. of Surg., Plastic Surg. Res. Labor., Durham. (98. Ann. Meet., Amer. Ophth.Soc., Hot Springs, Va., May 1962.)) Amer. J. Ophthal.,Ser. 3, 55,547-551 (1963).
48. H.Fanta: Veränderungen nach enzymatischer Zonulolyse im histologischen Schnitt.(Augenabt.,Krankenanst. Rudolfstiftung, Wien.) Klin.Mbl.Augenheilk. 142, 1011-1020 (1963).
49. K.Mylius und G.Filbry: Enzymatische Zonulolyse bei der frühzeitigen operation angeborener Katarakte. (Augenklin.,Allg.Krankenh.,Hamburg-Barmbek.) Klin.Mbl.Augenheilk. 143, 844-852 (1963).
50. J.Chassaing: Observations cliniques dans l'extraction de cataracte avec alpha-chymotrypsine et corticoïde soluble.(Klinische Beobachtungen bei kataraktextraktionen mit Hilfe von -Chymotrypsin und einem löslichen Cortisonpräparat.) (Lyon, 4.III.1962.) Bull.Soc. Ophtal.Fr. 63,246-251 (1963).

51. H.Hückel (Wien): Über den Einfluß von α -Chymotrypsin auf die Regeneration des Hornhautendothels.
52. H.U. Bergmeyer, Methoden der enzymatischen Analyse, Verlag Chemie, Weinheim / Bergstraße (1970), S. 401
53. Ralph E.Kirsch: Glaucoma following cataract extraction associated with use of alpha-chymotrypsin. (Glaukom nach Kataraktoperation mit Chymotrypsin.) (Dept.Ophthal., Univ.of Miami School Med., Mount Sinai Hosp., Greater Miami.) Arch. Ophthal. (Chicago) 72,612-620 (1964).
54. R.Jebavá and B.Fôrtová: Extraction of the cataract with enzymatic zonulolyse.(Kataraktextraktion mit enzymatischer Zonulolyse.) (Univ.-Augenklin., Hradec Králové,) Csl. Oftal. 22, 446-449 mit engl. Zus.fassg. (1966) (Tschechisch).
55. Martin P.Koke: Alpha chymotrypsin combined with penicillin in cataract extraction.(α -Chymotrypsin, kombiniert mit Penicillin bei der Kataraktoperation.) Amer.J.Ophthal., Ser.3, 63,1706-1709 (1967).
56. Shozo Oishi, Kazuo Shoji,Asae Imoto and Lai Yin Lok: Effect of alpha-chymotrypsin and trasylol on cataract extraction. (Die Wirkung von α -Chymotrypsin und Trasylol auf die Kataraktextraktion.) (Dept. Ophht., Yamaguchi Univ.School Med.,Yamaguchi.) Jap.J.clin. Ophthal. 22,339-345 mit engl.Zus.fass.(1968)(Japanisch).
57. R.Sachsenweger:Die Ablatiofrequenz nach Kataraktoperationen mit enzymatischer Zonulolyse.(Univ.-Augenklin., Leipzig.)Klin.Mbl.Augenheilk. 153,530-533 (1968).
58. P.F. Lee and K.W. Lam : Alpha-chymotrypsin and cataract surgery.
Dept.Retina Res. and Bioenerget.Res.,Inst.Biol.and Med.Sci., Retina Found., and Dept.Ophth.,Boston Univ. Med.School,Boston.) Amer.J.Ophthal., ser.3, 66,528-532 (1968).

59. Percival Chee and Duco I. Hamasaki: The basis for chymotrypsin-induced glaucoma. (Die Grundlage des chymotrypsinausgelösten Glaukoms.) (Bascom Palmer Eye Inst., Dept. Ophth., Univ. of Miami School Med., Miami, Fla.) Arch. Ophthal. (Chicago) 85, 103-106 (1971).
60. U. Mayer et R. Rix: Recherches expérimentales concernant l'action de l'alpha-chymotrypsine sur la Zonula zinnii. (Experimentelle Studien über die Wirksamkeit von alpha-Chymotrypsin auf die Zonula Zinnii.) Bull. Mém. Soc. franç. Ophthal. 84, 187-194 (1972).
61. D. Rauhut and J. W. Rohen: Electron microscopic study of the trabecular meshwork in alpha-chymotrypsin glaucoma. (Dept. Anat., Univ., Marburg/L.) Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. 184, 29-41 (1972).
62. Chiel A. Wind and Antonio R. Gasset: The effect of alpha-chymotrypsin on intraocular pressure and corneal wound healing. (Dept. Ophth., Coll. Med., Univ. of Florida, Gainesville.) Ann. Ophthal. 4, 32-39 (1972).
63. David Shoch: A double-blind evaluation of a stable aqueous solution of chymotrypsin. Amer. J. Ophthal., Ser. 3, 71, 391-395 (1971).
64. E. Weber: Zur Technik der Staroperation mit enzymatischer Zonulolyse. (55. Jahresvers., Schweiz. Ophth. Ges., Basel, 1.-2. X. 1960.) Ophthalmologica (Basel) 141, 410-417 (1961).
65. J. L. Menezo, R. Suárez und v. Menezo: Verbleibende Irislähmung und Keratitis filiformis: seltene Komplikationen nach Kataraktoperationen. (Augenklin., Klinikum Versicherungsanst. La Fe, Valencia.) Klin. Mbl. Augenheilk. 166, 523-527 (1975).
66. David Sears and Marvin Sears: Blood-aqueous barrier and alpha-chymotrypsin glaucoma in rabbits. (Dept. Ophth. and Vis. Sci., Yale Univ. School Med., New Haven, Conn.) Amer. J. Ophthal., Ser. 3, 77, 378-383 (1974).
67. Harold G. Scheie, Peter H. Morse and Ali Aminlari: Incidence of retinal detachment following cataract extraction. (Dept. Ophth. and Retina Serv., Scheie Eye Inst. and Presbyt. Univ. of Pennsylvania Med. Ctr., School Med., Univ. of Pennsylvania, Philadelphia).

68. J.M.Lantz and J.H.Quigley: Intraocular pressure after cataract extraction, effects of alpha chymotrypsin. (Dept.Opth.,Dalhousie Univ. and Halifax Infirm.,Halifax.) Canad.J.Opthal. 8, 339-343 (1973).
69. W.Buschmann,D.Linnert, W.Hofmann, A.Gross: Die Reißfestigkeit der menschlichen Zonula und ihre Abhängigkeit vom Lebensalter. (Augenklin.,Univ.,Würzburg.) Albrecht v. Graefes Arch.Opthal. 206, 183-190 (1978).
70. David M. Worthen: Scanning electron microscopy after alpha chymotrypsin perfusion in man. (Res.Serv., VA Hosp., and Dept.Opth.,Univ. of Florida, Gainesville.) Amer.J.Opthal., Ser.3, 73, 637-642 (1972).
71. Alfred Vogt: Die Sichtbarkeit des lebenden Hornhautendothels. Ein Beitrag zur Methodik der Spaltlampenmikroskopie. (Aus der Univ.-Augenklin. Basel) Albrecht v. Graefes Arch.Opthal. 101, 123-143
72. D.M.Maurice: Cellular membrane activity in the corneal endothelium of the intact eye. Experientia 24, 1094 (1968).
73. R.A.Laing, M.M.Sandstrom,H.M.Leibowitz:In vivo photomicrography of the corneal endothelium. Arch.Opthal. 93, 143-145 (1975).
74. W.M.Bourne, J.M. Enoch: Some optical principles of the clinical specular microscope. Invest.Opthal.15, 29-32 (1976).
- 75.W.M.Bourne,B.E.Mc Carey,H.E.Kaufmann:Clinical specular microscopy. Trans.Amer.acad.Opthal. Otolaryngol.81, 743 (1976).
76. R.Sundmacher und O.Müller:Spaltlampenmikroskopie des Hornhautendothels im Spiegelbezirk. Ber.Dtsch.Ophthalmol.Ges. 77, 943-950 (1980).
77. G.Grabner: Über die Spiegelmikroskopie des Hornhautendothels. Klin.Mbl.Augenheilk. 178,473-479 (1981).
78. F.B.Hoefle,D.M.Maurice: Human corneal donormaterial. Arch.Opthal. Vol. 89, 741-744
79. F.Bigar, Schimmelpfennig, A.Giesler: Routine evaluation of endothelium in human donorcorneas. Albr.V.Graefes Arch.Klin.exp.opththal. 200, 195-200.

80. C.W.Roberts, H.D.Rosskothén, Ch.J.Köster:
Widefield specular microscopy of excised donor
corneas. Arch.Ophthal. Vol. 99, 881-883.
81. T.Olsen, S.Sperling: Endothelial morphology re-
lated to disease activity in human corneas.
Acta ophth. Vol. 58, 103-110 (1980).
82. H. Bleckmann, Phase contrast microscopy of the
endothelium of isolated corneas, Acta XXIV int.
Congress Ophthalmol., in Druck (1983)
83. T.Olsen: Non-contact specular microscopy of human
corneal endothelium. Acta ophthal.(Kbh.) 57,
986-998 (1979).
84. R.Welt, W.Doden: Hornhautendothel-Spekularfoto-
grafie. Zeitschrift für prakt.Augenheilk.2,
219-229 (1981).
85. Bigar, Witmer, Thaer: Die Spiegelmikroskopie des
Hornhautendothels. Klin.Mbl.Augenheilk. 173,
691-696 (1978)
86. S.Sperling, S.R.Jacobsen: The surface coat on the
human corneal endothelium. Acta ophthal.(Kbh.) 58,
96-102 (1980).
87. G.S.Hoover, K.M. Mc Auliffe: A system for counting
endothelial cells from transparencies and negati-
ves. Amer.J.Ophthal. Ser. 3, 88, 260-262 (1979).
88. K.J.Hoffer: Vertical endothelial cell disparity.
Amer.J.Ophthal. Ser. 3, 87, 344-349 (1979).
89. T.Olsen: Variation of the endothelial morphology
of normal corneas and after cataract extraction.
Acta Ophthal. 57, 1014-1019.
90. C.D.Binkhorst, P.Nygaard, L.H.Loones: Specular
mikroskopy of the corneal endothelium and lens
implant surgery. Amer.J.Ophthal. 85, 597-605.
91. L.W.Hirst, R.C.Suip, W.J.Stark, A.E.Maumenee:
Intraocular lens implantation and cataract surgery.
Amer.J.Ophthal. Dez.77, 775-780.
92. A.Sugar, E.C.Fetherolf, L.L.K.Lin, S.A.Obstbaum,
M.A.Galin: Endothelial cell loss from intraocular
lens insertion. Ophthalmology (Rochester, MN) 85,
394-399 (1978).

93. Howard M. Leibowitz, R.A. Laing and M. Sandstrom: Corneal endothelium. The effect of air in the anterior chamber. Arch. Ophthal. (Chicago) 92, 227-230 (1974).
94. R.A. Eiferman, E.L. Wilkins: The effect of air on human corneal endothelium. Amer. J. Ophthal. Ser. 92, 328-331 (1981).
95. J. Wollensak, Zonula Zinnii, Histologische und chemische Untersuchungen, insbesondere über Zonulolysis enzymatica und Syndroma Marfan, Fortschr. Augenheilk. Vol. 16 (1965) S. 240 - 335
97. K.M. Illig: Die Behandlung rezidivierender Hornhauterosionen mit verdauenden Fermenten. Klin. Mbl. Augenheilk. 176, 839-840 (1980).
98. S.K. Biswas et P. Payrau: Antienzymes et ulcères de la cornée. (Antienzyme und Hornhautgeschwüre.) Ann. Oculist. (Paris) 206, 281-285 (1973).
99. H.L. Blatt, G.N. Rao, J.V. Aquavella: Endothelial cell density in relation to morphology. Invest. Ophthal. vis. Sci. 18, 856-859 (1979).
100. J.M. Lester, J.L. McFarland, S.E. Bursell, R.A. Laing, J.F. Brenner: Automated morphometric of corneal endothelial cells. Assoc. for Res. in Vis. and Ophthal., 1981.
101. St.D. Klyce, D.M. Maurice: Automatic recording of corneal thickness in vitro. Invest. Ophthal. Juli 1976, S. 550 - 553.
102. George O. Waring, M.A. Krohn, G.E. Ford, R.R. Harris, L.S. Rosenblatt: Four methods of measuring human corneal endothelial cells from specular photomicrographs. Arch. Ophthalmol. Vol. 98, May 1980, Seite 848 - 855.
103. E.S. Sherrard, R.J. Buckley: The Relief Mode. New application of the corneal specular microscope. Arch. Ophthalmol. Vol. 100, 296-300 (Febr. 1982).
104. R.L. Abbott, B.S. Fine, R.G. Webster et al.: Specular microscopic and histologic observations in nonguttate

105. H.I.Alanko, P.J.Airaksinen: A counter for fixed-frame endothelial cell analysis. Amer.L.Ophthal., Ser. 3, 91,401-403 (1981).
106. S.P.Azen, R.E.Smith, A.A.Burg et al: Variation in central and vertical corneal endothelial cell density in normal subjects. Acta ophthal. (Kbh.) 59, 94-99 (1981).
107. G.Dózsa: Über die Wirkung der Phakoemulsifikation und das Corneaendothel. Szemészet 118, 154-160 mit engl. u. dtsh. Zus.fass. (1981) (Ungarisch).
108. J.P.Faure, Yiz.Kim, B.Graf: Formation of giant cells in the corneal endothelium elusing its regeneration after destruction by freezing. Exp.Eye Res. 12, 6-12 , Zentr.Arch. 106, (1976).
109. F.Bigar, A.Hürzeler, P.Rejman: Cornea guttata. Klin.Mbl.Augenheilk. 176, 644-647 (1980).
110. G.Offret, L.Pouliquen, G.Renard: Fuchssche Endotheldystrophie. Das Bild des Hornhautendothels unter dem Elektronenmikroskop. Klin.Mbl.Augenheilk. 170, 796-803 (1977).
111. T.Olsen: Changes in the corneal endothelium after acute anterior uveitis. Acta ophthal. 58, 250-256
112. T.Olsen: The endothelial cell damage in acute glaucoma on the corneal thickness response to intraocular pressure. Acta ophthal. 58, 257-266.
113. A.A.Laing, H.M.Leibowitz, Setsuko S.S. Oak, R.Chang., A.R.Berrosipi, J.Theodore : Endothelial mosaic in Fuch's dystrophy. Arch.Ophthalmol. 99, Jan 1981.
114. K.J.Hoffer, A.C.Kraft: Normal endothelial cell count range. Am.Acad.Ophthal. 87, 861-866 (1980).
115. H.E.Kaufmann, J.J.Katz: Pathology of the corneal endothelium. Invest. Ophthal. 16, 265 - ... (1977).
116. H.E.Kaufmann, J.A.Capella, J.E. Robbins: The human corneal endothelium. Amer.J.Ophth. 61, 835-... (1966).

118. R.Laing, M.Sandstrom, u.a. :Changes in the corneal endothelial as a function of age.
Exp. Eye Res. 22, 587-594 (1975).
119. W.L.Blackwell, H.Gravenstein, H.E.Kaufmann:
Comparison of central corneal endothelial cell numbers with peripheral areas.
Amer.J.Ophthal. 84, 473 (1977).
120. W.M.Bourne, H.E.Kaufmann: Specular mikroskopy of human corneal endothelial in vivo.
Amer.J.Ophthal. 81, 319 (1976).
121. S.L.Forstot, W.L.Blackwell, N.S.Jaffe: Effect of intraocular lens implantation on the corneal endothelium. Trans.Am.Acad.Ophthalmol. Otolaryngol 83, 195 (1977).
122. N.Brown: Macrophotography of the anterior segment of the eye. Brit.J.Ophthal. 54, 697-701 (1970).
123. A.J.Bron, N.A.P. Brown: Endothelium of the corneal graft. Trans.Ophthal.Soc. U.K. 94, 863-873 (1974)
124. J.M.Lester, J.L.Mc Farland, S.-E. Bursell, R.A.Laing, J.F.Brenner: Automated morphometric analysis of corneal endothelial cells. Assoc. for Res. in Vis. and Ophthal., Inc., March 1981, Seite 407-410.
125. Saiichi Mishima, M.D. : Clinical investigations on the corneal endothelium. Amer.J.Ophthal. 93, 1-29 (1982).
126. Carl Zeiss Produktinformation: Hornhautmikroskopie mit der Spaltlampe - Endothel-Betrachtung im Spiegelbezirk. Mikroskop-Zusatz für die Zeiss Spaltlampe.
127. Brian, Holden, Polse, Frun und Mertz: Effects of cataract surgery on corneal function.
Invest.Ophthal. & Vis. Sci. s. 343-350.

128. Peter Karlson: Biochemie , 10.Auflg. (1977),
Seite 137-138.
129. Römpps: Chemie - Lexikon (1972).
130. H.-U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen
Analyse. 5.Auflg. (1974), S.1045-1046.
131. H.-K.Kuemmerle und N.Goossens: Klinik und
Therapie der Nebenwirkungen. S.428 (1973).
132. Meyer, Jawetz, Goldfien: Lehrbuch der
Pharmakologie, Kap. 18, Seite 38.
133. Y.Takei und G.K.Smelser: Electron microscopic
studies of zonular fibers.
Albr.v.Graefes Arch. Klin. exp. Ophthal. 194,
S. 156 (1975).
134. W.Bornfeld, M.Spitznas, W.Breipohl, G.J.Dijvauk:
Scanning electron microscopy of the zonula of Zinn.
Albr.v.Graefes Arch. Klin. exp. Ophthal. 192,
S.117 (1974).
135. A.Probst, D.Leb: Elektronenmikroskopische Unter-
suchungen über die Verankerung der Zonula.
Albr.v.Graefes Arch. Klin. exp. Ophthal. 166,
S. 152 (1963).
136. H.Davanger: The suspensory apparatus of the lens.
Acta ophthal. (Kbh.) 53, 19 (1975).
137. J.W.Rohen: Scanning electron microscopic studies
of the zonular apparatus in human and in monkey
eyes.
Invest. Ophthal. 18, 135 (1979).
138. Cantz, M.,Kresse, H.,Barton, R.W. and Neufeld, E.F.
(1972). Corrective factors for inborn errors of
mucopolysaccharide metabolism.
Methods Enzymol. 28, 884-97.

Mein Dank gilt an dieser Stelle insbesondere
Herrn Prof. Dr. Bleckmann für die Überlassung
des Themas sowie seinen vielen Anregungen
und Herrn Behrend für die Unterstützung bei den
Fotoarbeiten.

Persönliche Daten

Geburtsdatum	11. September 1949
Geburtsort	Paderborn / Nordrhein - Westfalen
Eltern	Dr. Wilhelm Lohoff und seine Frau Florentine, geb. Haase

Lebenslauf

1956	Grundschule in Paderborn
1961	Gymnasium Theodorianum in Paderborn
1966	Gymnasium Institut Lucius in Echzell
1971	Abitur
1971	Theologiestudium an der Georg - August - Universität zu Göttingen
1972	Studium der Medizin und Theologie an der Christian - Albrecht - Universität in Kiel
1976	Physikum
1980	Ärztliche Prüfung und Approbation
seit 1981	wissenschaftlicher Mitarbeiter der Freien Universität Berlin, Augenklinik des Klinikum Charlottenburg

